Modellversuche zur Elimination von Ammoniak durch Ketosen

INAUGURALDISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde der

HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
DER UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

vorgelegt von

Rudolf Greth

Saarbrücken
1972

AUS DER FACHRICHTUNG PHYSIOLOGISCHE CHEMIE
DES FACHBEREICHS 3 -THEORETISCHE MEDIZIN-
DER UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

MODELLVERSUCHE ZUR ELIMINATION VON AMMONIAK DURCH KETOSEN

I N A U G U R A L D I S S E R T A T I O N

zur Erlangung der Doktorwürde
der
HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
DER UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

1972

vorgelegt von
RUDOLF GRETH
geb. am 1. Juli 1946 in Landau

Dekan: Professor Dr. med. H. KULENKAMPFF
Referent: Professor Dr. rer. nat. H. J. HAAS

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Die mündliche Promotionsprüfung wurde am 22.12.72 abgelegt

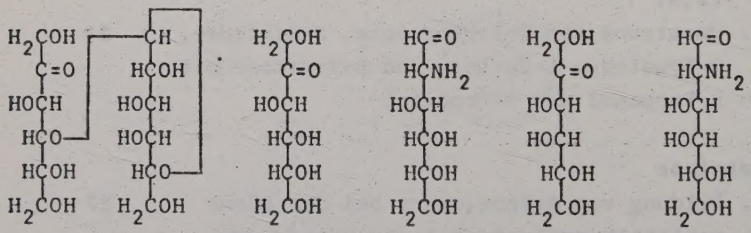
I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

		Seite
1.	Einleitung	3
2.	Themenstellung	6
3.	Beschreibung der Versuche	
	3.1. Verwendete Ketosen	9
	3.2. Bildung von Aminozuckern bei der Dünn=schichtchromatographie von Ketosen an Kieselgel H im System n-Propanol-konz. Ammoniak-Wasser (6:2:1, V:V:V)	9
	3.3. Reaktion von Ketosen mit Ammoniak in Gegenwart von Kieselgel H (präparative Versuche)	10
	3.4. Bestimmung der Aminozucker	12
	3.5. Herstellung von Pyrazin-dicarbonsäure-(2,5)	15
	3.6. Umsetzung von D-Erythrulose, D-Ribulose, D-Fructose, L-Sorbose und D-Tagatose mit n-Propanol und i-Propanol	15
4.	Ergebnisse	
	4.1. Bildung von Aminozuckern bei der Dünn=schichtchromatographie von Ketosen an Kieselgel H im System n-Propanol-konz. Ammoniak-Wasser (6:2:1, V:V:V)	17
	4.2. Reaktion von Dihydroxyaceton, D-Erythru=lose, D-Ribulose, D-Fructose, L-Sorbose und D-Tagatose mit Ammoniak (präparative Versuche)	19
5.	Zusammenfassung	27
6.	Literatur	28

1. E I N L E I T U N G

Das im Organismus anfallende Ammoniak wird vor allem mit Hilfe des vorwiegend in den Leberparenchymzellen ablaufenden Harnstoffzyklus "entgiftet". Der Harnstoffzyklus ist ein endergonischer Prozeß, d.h. die Harnstoffbildung erfordert Adenosintriphosphat, dessen Hauptquelle die oxydative Phosphorylisierung ist. Die Harnstoffsynthese ist daher bei Verminderung der Zahl der Leberparenchymzellen, bzw. bei Herabsetzung ihrer Syntheseaktivität, etwa bei mangelhafter Sauerstoffversorgung der Leber aufgrund portocavaler Shunts verringert. In solchen Fällen, wie sie etwa bei einer Lebercirrhose vorliegen, steigt daher der Gehalt des Bluts an Ammoniak, was für das Auftreten eines Coma hepaticum mitverantwortlich ist.

Zur Senkung des Blutammoniaks werden bisher neben Verbindungen aus anderen Substanzklassen auch Kohlenhydrate, vor allem D-Lactulose (4-O-ß-D-Galakto-pyranosyl-D-fructose, I) und D-Fructose (II) eingesetzt.

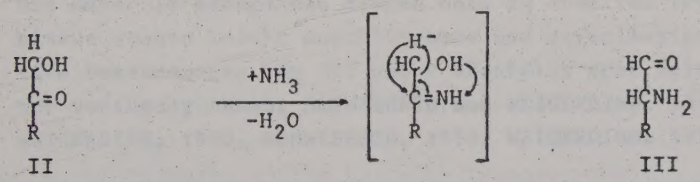


I [1)] II III IV V

1) Der besseren Übersicht wegen werden die Zucker, soweit möglich, in offenkettiger Form und in der Schreibweise nach E. FISCHER dargestellt.

Die orale oder die rektale Verabreichung von I (in reiner Form oder in Form eines Gemischs mit anderen Verbindung, wie es etwa in einer "Bacterium-bifidum Milch vorliegt) bewirkt, daß in der Darmflora die Zahl der Lactobazillen zu- und die Zahlen der Coli- und der Proteusbakterien abnehmen, wodurch die oxydative Freisetzung von Ammoniak aus Aminosäuren und somit sowohl die Ammoniakresorption als auch die Belastung der Leber durch Ammoniak verringert werden (BIRCHER, 1969, MARKOFF, 1969, MÜTING, REIKOWSKI, ESCHRICH, KLEIN und DOENECKE, 1968).
Durch die parenterale Zufuhr von II wird der Ammoniakgehalt des Blutes aufgrund der Bildung von D-Glucosamin (2-Desoxy-2-amino-D-glucose, III) gesenkt (WEICKER, 1967). Dieser Amino=zucker wird dann im Harn ausgeschieden. Die ammoniaksenkende Wirkung von II bei der Behandlung des Praecoma hepaticum wurde auch von anderer Seite beobachtet (MÜTING, REIKOWSKI, ESCHRICH und MATZANDER, 1966).

Die Bildung von III aus Ammoniak und II ist ein Spezialfall der sog. HEYNS-Umlagerung (HEYNS und KOCH, 1952, HEYNS und MEINECKE, 1953, HEYNS, EICHSTEDT und MEINECKE, 1955), bei der aus Ketosen (mit Ketogruppe in Stellung 2) und geeigneten



II III

R= CHOH-CHOH-CHOH-CH_2OH (D-arabo)

aliphatischen Aminen die entsprechenden 2-Desoxy-2-amino-al=dosen entstehen. HEYNS-Umlagerungen finden auch bei Abwesen=heit von Enzymen statt, und es ist anzunehmen, daß die im Blut erfolgende Bildung von III aus Ammoniak und II ebenfalls ohne enzymatische Katalyse abläuft.

WEICKER fand 1967, daß der Harn Gesunder auch nach Verabrei=chung von II kein III enthält. Dagegen scheiden Patienten mit

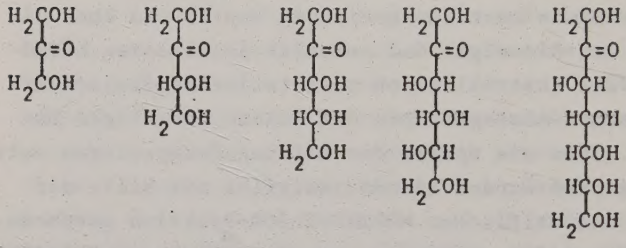
Lebercirrhose III nach Gabe von II aus, wobei gleichzeitig die Menge des im Blut enthaltenen Ammoniaks sinkt. Dieser Befund entspricht der Beobachtung (WEICKER und BROSSMER, 1961), daß bei der Dünnschichtchromatographie verschiedener stickstoff= freier Hexosen, Pentosen und Disaccharide an Kieselgel im System n-Propanol-konz. Ammoniak-Wasser (6:2:1, V:V:V) die Kohlenhydrate teilweise in Aminozucker übergehen. Die bei An= wesenheit von Kieselgel erfolgende partielle Umwandlung von II in III und von D-Tagatose (IV) in Galaktosamin (2-Desoxy-2-amino-D-galaktose, V) wurde auch im präparativen Maßstab durchgeführt (WEICKER und GRÄSSLIN, 1964). Während bei Abwe= senheit von Kieselgel Temperatur- und Druckerhöhung erforder= lich waren, um befriedigende Ausbeuten an Aminozuckern zu er= halten (HEYNS und KOCH, 1952, HEYNS und MEINECKE, 1953, HEYNS, EICHSTEDT und MEINECKE, 1955), konnte in Anwesenheit von Kieselgel bei Zimmertemperatur und Normaldruck gearbeitet wer= den.

2. THEMENSTELLUNG

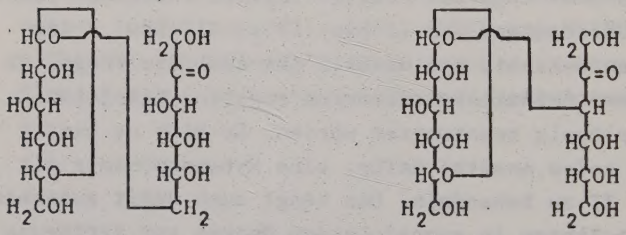
Bei den meisten der bisher durchgeführten Untersuchungen über die bei Hyperammonämie nach Verabreichung von II und über die bei Anwesenheit von Kieselgel und Ammoniak ablaufenden HEYNS-Umlagerungen wurden ausschließlich qualitative Ergebnisse erhalten. Quantitative Aussagen über das Ausmaß derartiger Umlagerungen, d.h. über die Mengen der bei den Umlagerungen entstehenden Aminozucker wurden bisher lediglich mit Hilfe der verhältnismäßig unspezifischen MORGAN-ELSON-Reaktion gewonnen, wenn man von den bereits erwähnten, durch WEICKER und GRÄSSLIN publizierten Befunden absieht, die auf gravimetrischem Wege ermittelt wurden und daher als relativ ungenau anzusehen sind. Das Ausmaß der Umsetzungen von II bzw. IV zu III bzw. V ist daher nicht genau bekannt, und deshalb ist auch die Frage, ob II oder IV größere Aminozuckerausbeuten ergeben, bis jetzt noch nicht zuverlässig beantwortet worden. So gibt es bis jetzt auch noch keine Ansätze dafür, eine Hyperammonämie mit IV anstelle von II zu behandeln. Das hängt auch damit zusammen, daß zwar II seit langem in ausreichenden Mengen zur Verfügung steht, daß aber IV erst seit kurzem (GRÜNNAGEL und HAAS, 1969, AL-JOBORE, GUTHRIE und WELLS, 1971) leicht zu synthetisieren und daher in genügenden Mengen rein zu erhalten ist. Darüber hinaus stehen leicht durchführbare und zuverlässige quantitative Bestimmungen von III und V ebenfalls erst seit kurzer Zeit zur Verfügung (HAAS, SCHWIERSCH und WEIGERDING, 1970, HAAS und WEIGERDING, 1970, SCHWIERSCH, 1970, WEIGERDING, 1970).

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit sollten daher die in Gegenwart von Kieselgel ablaufenden HEYNS-Umlagerungen von II bzw. IV zu III bzw. V quantitativ untersucht werden.
In die Experimente sollten weitere Ketosen einbezogen werden. Es sollten die in Gegenwart von Kieselgel und Ammoniak ablaufenden HEYNS-Umlagerungen folgender Ketosen quantitativ untersucht werden:
Dihydroxyaceton (VI), D-Erythrulose (VII), D-Ribulose (VIII), L-Sorbose (IX), Sedoheptulose (X), Palatinose (6-O-α-D-Gluco=

pyranosyl-D-fructose, XI), Turanose (3-O-α-D-Glucopyranosyl-D-fructose, XII).

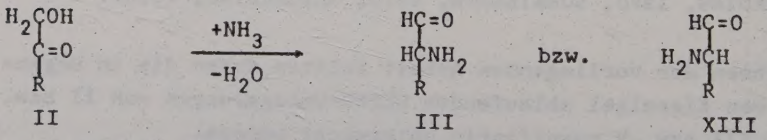


VI VII VIII IX X



XI XII

Bei der "Aminierung" von II, d.h. bei der unter HEYNS-Umlagerung verlaufenden Reaktion von II mit Ammoniak könnte neben III das epimere D-Mannosamin (2-Desoxy-2amino-D-mannose, XIII) entstehen. Ob dies tatsächlich der Fall ist, wurde bis



II III bzw. XIII

R= CHOH-CHOH-CHOH-CH_2OH (D-arabo)

jetzt ebenfalls noch nicht untersucht. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit sollte geprüft werden, ob und gegebenenfalls in welchem Ausmaß bei der Reaktion von II mit Ammoniak III und XIII nebeneinander entstehen.

Auch bei den Aminierungen der Ketosen I, IV, VI, VII, VIII, IX, X, XI und XII könnten jeweils 2 epimere, insgesamt also 18 Aminozucker entstehen. Die Klärung dieser Problematik wäre nur möglich gewesen, wenn diese 18 Aminozucker leicht zugänglich gewesen wären. Da dies aber mit Ausnahme von Galaktosamin (V) nicht der Fall ist, d.h. die restlichen 17 Aminozucker aus natürlichen Vorkommen oder auf synthetischem Wege nur schwierig zu erhalten sind, teilweise sogar überhaupt noch nicht bekannt sind, wurde darauf verzichtet, diese Frage zu bearbeiten.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden nur in-vitro-Versuche durchgeführt. Diese zielten also in erster Linie darauf ab, herauszufinden, ob D-Fructose (II) oder eine andere der erwähnten Ketosen in Gegenwart von Kieselgel am besten aminiert wird. Später soll geprüft werden, ob die gewonnenen Ergebnisse auch bei in-vivo-Versuchen erhalten werden.

3. BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

3.1. Verwendete Ketosen

Dihydroxyaceton (VI): bezogen von Firma C. ROTH, Karlsruhe

D-Erythrulose (VII): hergestellt nach Vorschrift (HAAS und MATZ, 1972)

D-Ribulose (VIII): für die bei 3.2.2. geschliderten Versuche: bezogen von Firma FLUKA AG, Buchs (Schweiz);
für die bei 3.3. geschilderten Versuche: hergestellt nach Vorschrift (GRETH und HAAS, 1972)

D-Fructose (II): bezogen von Firma E. MERCK AG, Darmstadt

D-Tagatose (IV): für die bei 3.2.2. geschilderten Versuche: bezogen von Firma KOCH-LIGHT-LABORATORIES LTD., Colnbrook (England);
für die bei 3.3. geschilderten Versuche: hergestellt nach Vorschrift (GRÜNNAGEL und HAAS, 1969)

L-Sorbose (IX): bezogen von Firma E. MERCK AG, Darmstadt

Sedoheptulose (X): bezogen von Firma KOCH-LIGHT-LABORATORIES LTD., Colnbrook (England)

Lactulose (I): bezogen von Firma J.T. BAKER, Groß-Gerau

Turanose (XII): bezogen von Firma Dr. TH. SCHUCHARDT GmbH, München

3.2. Bildung von Aminozuckern bei der Dünnschichtchromatographie von Ketosen an Kieselgel H im System n-Propanol-konz. Ammoniak-Wasser (6:2:1, V:V:V)

3.2.1. Herstellung der Dünnschichtchromatographie-Platten

3.2.1.1. Kieselgel H ohne Zusatz

Die Herstellung der Platten erfolgte nach Vorschrift (STAHL, 1967): 30g Kieselgel H wurden in 60ml Wasser homogen suspendiert. Die Suspension wurde mit einem üblichen Streichgerät (Firma DESAGA, Heidelberg) auf Glasplatten ausgestrichen (Schichtdicke: 0,5mm). Die Platten wurden an der Luft getrocknet und vor Gebrauch 1 Stunde auf 110° erhitzt. Bei allen Versuchen wurde Kieselgel H, bezogen von Firma E. MERCK AG, Darmstadt, verwendet.

3.2.1.2. Kieselgel H mit Zusatz

30g Kieselgel H wurden in 60ml 0,02 M wässrigen Lösungen (Natriumacetat, sek. Natriumphosphat, Natriumdesoxychlat) bzw. in einer Lösung von 1g Kernseife (Natriumseife) homogen suspendiert. Die weitere Plattenherstellung erfolgte wie bei 3.2.1.1.

3.2.2. Dünnschichtchromatographie der Ketosen

Je 100mg der Ketosen wurden in 4ml Wasser gelöst. 10µl dieser Lösungen wurden auf die Dünnschichtplatten aufgetragen. Dann wurde bei Kammersättigung 2 Stunden im System n-Propanol-konz. Ammoniak-Wasser (6:2:1, V:V:V) chromatographiert. Nach Trocknen der Platten wurde nochmals 2 Stunden unter gleichen Bedingungen chromatographiert. Die Platten wurden nach Trocknen mit einer Lösung von 0,3g Ninhydrin in 100ml n-Butanol und 3ml Eisessig besprüht und dann auf 100-110° erhitzt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 1 (Seite 18) dargestellt.

3.3. Reaktion von Ketosen mit Ammoniak in Gegenwart von Kieselgel H (präparative Versuche)

Aufgrund der Ergebnisse der bei 3.2.2. geschilderten Versuche (vgl. Tabelle 1, Seite 18) wurde nur in den Fällen von Dihydroxyaceton (VI), D-Erythrulose (VII), D-Ribulose (VIII), D-Fructose (II), L-Sorbose (IX) und D-Tagatose (IV) das Aus-

maß der Umsetzung mit Ammoniak zu den entsprechenden Amino=zuckern bestimmt. Gemessen wurden die Umsetzungen der Ketosen II, IV, VI, VII, VIII, IX und X zu den entsprechenden Amino=zuckern in Gegenwart von Kieselgel mit und ohne Zusatz von Kernseife, weil die Aminierungen auf den Kieselgelplatten am besten bei Zusatz von Kernseife abliefen (vgl. Tabelle 1, Seite 18). Da Zusätze von Natriumacetat, sek. Natriumphosphat oder Natriumdesoxycholat das Ausmaß der dünnschichtchromato=graphischen Aminozuckerbildungen nicht veränderten (vgl. Tabelle 1, Seite 18), wurde darauf verzichtet, die HEYNS-Um=lagerungen in diesen Fällen quantitativ zu verfolgen.

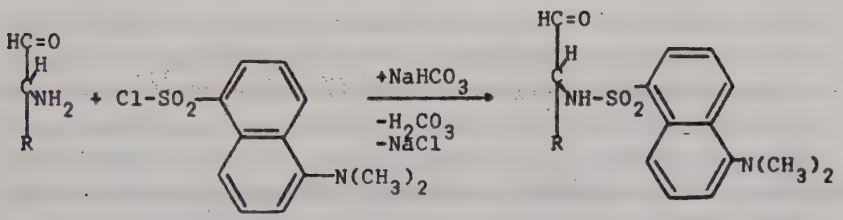
Die Methode zur Aminierung der Ketosen lehnte sich an die von WEICKER und GRÄSSLIN publizierte Vorschrift an. Da es nicht gelang, diese Vorschrift genau zu reproduzieren, wurde in folgender Weise gearbeitet. 2,77m Mole Ketose (0,500g der Hexulosen, bzw. 0,416g D-Ribulose, bzw. 0,333g D-Erythrulose, bzw. 0,250g Dihydroxyaceton) wurden in je 100ml eines Gemischs aus n-Propanol, Wasser und konz. Ammoniak (8:3:1, V:V:V) ge=löst. Die Lösungen wurden mit 20g Kieselgel H (kurz vor Ver=suchsbeginn 1 Stunde auf 110° erhitzt) versetzt und dann 12 Stunden bei 20° gerührt. Die Suspensionen waren nach etwa 6 Stunden dunkelgelb bis hellbraun geworden. Nach Zentrifugieren wurde der Überstand abgegossen und das abgesetzte Kieselgel solange mit i-Propanol gewaschen, bis es frei von Ammoniak war (Prüfung mit Neßlers Reagenz). Verwendete man Wasser als Waschflüssigkeit, so blieb der Überstand trüb. Die vereinigten Überstände wurden im Vakuum (Badtemperatur: 30°) auf wenige ml eingeengt. Dann wurde mit Wasser in einen Meßkolben umgespült und auf 50ml aufgefüllt. Aus diesen Lösungen wurden jeweils 0,08ml entnommen und der darin enthaltene Aminozucker bestimmt (Abschnitt 3.4.).

Bei den Versuchen zur Bildung von Aminozuckern in Gegenwart von Seife wurde 1g feingemahlene Kernseife in 100ml eines Gemischs aus n-Propanol, Wasser und konz. Ammoniak (8:3:1, V:V:V) gelöst. In die filtrierte Lösung wurden je 2,77m Mole der Ketosen gegeben. Dann wurde, wie oben angegeben, weiter=

gearbeitet.

3.4. Bestimmung der Aminozucker

Von den bereits (Seite 6) erwähnten modernen Verfahren erwies sich die Aminozuckerbestimmung mit Hilfe von Dansylchlorid (1-Dimethylamino-naphthalin-sulfonylchlorid-(5), XV) als besonders günstig. Dabei werden die durch die allgemeine Formel XIV darstellbaren Aminozucker in Gegenwart von Natriumhydrogencarbonat in die intensiv gelb fluoreszierenden Dansylaminozucker (N-[5-Dimethylamino-naphthalin-sulfonyl-(5)]-aminozucker, allgemeine Formel: XVI überführt, und diese nach dünnschichtchromatographischer Abtrennung fluorometriert.



XIV XV XVI

R= Zucker"rest"

Diese Methode war zur Bestimmung von III entwickelt worden (HAAS, SCHWIERSCH und WEIGERDING, 1970, SCHWIERSCH, 1970), sie konnte daher direkt zum quantitativen Nachweis des bei der Reaktion von II mit Ammoniak gebildeten III verwendet werden. Die Methode mußte auf die Bestimmung derjenigen Aminozucker, die bei der Aminierung der Ketosen IV, VI, VII, VIII und IX entstehen, übertragen werden.

Als besonderer Vorzug der Methode, III mit Hilfe von XV zu bestimmen, hatte sich erwiesen, daß III vor der Dünnschichtchromatographie und vor der Fluorometrie nicht vollständig mit XV umgesetzt werden mußte. Es hatte sich nämlich gezeigt, daß die Geschwindigkeit der Umsetzung von III mit XV, d.h. die Geschwindigkeit mit der Dansylglucosamin entsteht, innerhalb der

ersten Minuten proportional der Ausgangskonzentration an III ist, wenn man geeignete Überschüsse an XV und Natriumhydrogencarbonat einsetzte. Aufgrund dieser Kinetik konnte durch Vergleich der Bildungsgeschwindigkeiten von Dansylglucosamin in Lösungen bekannter Konzentrationen an III dieses in Lösungen unbekannter Konzentrationen quantitativ nachgewiesen werden.

Zunächst ergab sich, daß Mannosamin (XIII) und Galaktosamin (V) mittels XV analog wie III zu bestimmen sind. Die Dansylierungsgeschwindigkeiten von XIII und von V sind also in den ersten Minuten der Umsetzungen proportional den Konzentrationen dieser Aminozucker. Darüber hinaus zeigte sich, daß XIII ebenso schnell dansyliert wird wie III, wenn man äquimolekulare Lösungen von III und XIII einsetzt. Der Mannosamin-Gehalt einer Lösung kann daher nicht nur durch Vergleich der Dansylierungsgeschwindigkeit des in dieser Lösung enthaltenen Mannosamins mit der des Mannosamins in einer Lösung bekannter Konzentration bestimmt werden. Vielmehr kann diese Bestimmung auch so ausgeführt werden, daß man die Dansylierungsgeschwindigkeit des Mannosamins in Lösungen unbekannter Konzentration mit der Geschwindigkeit der Glucosamin-Dansylierung in einer Lösung bekannter Glucosamin-Konzentration vergleicht. Daher wurden auch die während der Aminierungen der Ketosen IV, VI, VII, VIII bzw. IX entstandenen Aminozucker durch Vergleich der Dansylierungsgeschwindigkeiten mit der Geschwindigkeit der Dansylierung von Glucosamin in Lösungen bekannter Glucosamin-Konzentrationen bestimmt. Dabei wurde vorausgesetzt, daß sich auch die aus IV, VI, VII, VIII bzw. IX gebildeten Aminozucker ebenso schnell wie das in äquimolekularen Glucosamin-Lösungen enthaltene III mit Dansylchlorid umsetzen. Diese Annahme konnte nicht geprüft werden, weil, wie bereits (Seite 8) erwähnt, die während der Aminierung der Ketosen IV, VI, VII, VIII und IX möglicherweise entstehenden 10 Aminozucker mit Ausnahme von D-Galaktosamin (V) nur schwer zugänglich sind und die übrigen 9 Aminozucker nicht zur Verfügung standen. Die Ergebnisse zeigten jedoch, daß diese Annahme plausibel, also, zumindest nicht vollständig falsch ist.

Gleiche Volumina (0,08ml) der bei 3.2.3. erhaltenen Amino=zuckerlösungen und der als Vergleichslösung dienenden Gluco=samin-Lösung bekannter Konzentration (1,6; 2,0; 2,4; 3,2; 3,6; bzw. 4,4mg D-Glucosamin-hydrochlorid in 1ml Wasser) wurden bei 20° mit je 0,3ml einer Lösung von 160mg Dansylchlorid in 10ml Aceton und 0,07ml einer Lösung von 142,8mg Natriumhydrogen=carbonat in 10ml Wasser versetzt. Entsprechend der Original=vorschrift (SCHWIERSCH, 1970) wurden die Dansylaminozucker anschließend an DC-Karten Si F im System Benzol-Methanol-Dioxan (28:4:56, V:V:V, Laufstrecke: etwa 6cm) abgetrennt. Nach Trocknen der DC-Karten wurde bei 390nm fluorometriert. Der bei 254nm anregbare, in den DC-Karten enthaltene Fluores=zenzindikator stört die fluorometrischen Messungen nicht. Ge=eignete, indikatorfreie DC-Fertigplatten waren im Handel nicht erhältlich.

Die Originalvorschrift wurde dahingehend modifiziert, daß ali=quote Teile des Analysengemischs nicht mit Hilfe von Mikropi=petten sondern mittels einer Mikrospritze (Nr. 75, NCH, Firma CLARK HAMILTON MANUFACTURING AG, Bonaduz, Schweiz) aufgetragen wurden. Dadurch konnten konstante und reproduzierbare Auf=tragevolumina garantiert und daher die Meßgenauigkeit erhöht werden. Pro Einzelanalyse wurden jeweils 3µl aufgetragen. Es wurden jeweils 3 Einzelanalysen ausgeführt und die entsprech=enden Mittelwerte als Ergebnis festgehalten (Tabelle 2, Seite 20).

Für die fluorometrischen Messungen wurde ein Fluorometer (Modell 111, Firma G.K. TURNER ASSOCIATES, Palo Alto, USA) mit DC Meßtür (Modell 111-898, Firma CAMAG AG, Muttenz, Schweiz) sowie ein Servogor-Schreiber mit Integrationsein=richtung (Typ RE 512, Firma GOERZ-ELEKTRO GmbH, Wien, Öster=reich) verwendet. Als Lichtquelle diente eine UV-Fluoreszenz=lampe (Typ 110-850), als Filter wurden ein Primärfilter (Typ 110-812), ein Sekundärfilter (Typ 110-822) und, falls eine Abschwächung der Fluoreszenzstrahlung erforderlich war, zu=sätzlich ein Filter (Typ 110-823, 10%) verwendet. Die UV-Fluoreszenzlampe und Filter stammen von Firma G.K. TURNER

ASSOCIATES, Palo Alto, USA). Am Fluorometer wurde der Empfindlichkeitsbereich 10 gewählt. Im allgemeinen wurde mit einer Spaltbreite von 2,1mm bei einem Plattenvorschub von 2,4cm/min (Einstellung 2) gearbeitet. Als günstig erwies sich eine Schreiberempfindlichkeit von 10mV und ein Papiervorschub von 40cm/min.

3.5. Herstellung von Pyrazin-dicarbonsäure-(2,5) (XIX, KUHN, KRÜGER, HAAS, SEELIGER, 1961)

Eine Lösung von 1,24g Desoxyfructosazin (KUHN, KRÜGER, HAAS, SEELIGER) in 50ml 6-proz. wässrigem Wasserstoffperoxid wurde mit 2g Natriumhydroxid versetzt und nach Beendigung der Sauerstoffentwicklung langsam auf 80° erwärmt. Nach Zugabe von 3ml Perhydrol wurde solange erwärmt, bis die Fehlingsche-Probe negativ war. Nach Ansäuern mit 2N Salpetersäure und Abkühlen kristallisierte das Rohprodukt. Seine Lösung in etwa 10ml 2N Ammoniak wurde im Vakuum zur Trockne gebracht und der Rückstand aus Wasser/Äthanol umkristallisiert. Das Ammoniumsalz wurde in 5ml 2N Ammoniak heiß gelöst und die Lösung mit 2N Salpetersäure angesäuert. Nach Abkühlen kristallisierte das Präparat, das abgesaugt, mit Wasser gewaschen und im Vakuum über Calciumchlorid getrocknet wurde. Schmelzbereich: 234-240°.

3.6. Umsetzungen von D-Erythrulose (VII), D-Ribulose (VIII), D-Fructose (II), L-Sorbose (IX) und D-Tagatose (IV) mit n-Propanol und i-Propanol

Je 0,5m Mol der Ketosen (je 90mg II, IX und IV, 75mg VIII, 60mg VII wurde in je 1ml Wasser, bzw. 1ml n-Propanol, bzw. 1ml i-Propanol gelöst. Sofort nach Herstellung der Lösungen wurden je 5µl dieser insgesamt 15 Lösungen auf Papierchromatogramme (Papier Nr. 2043 b Mgl, Firma SCHLEICHER und SCHÜLL, Dassel) aufgetragen, und diese im System n-Propanol-konz. Ammoniak-Wasser (6:2:1, V:V:V) etwa 30 Minuten entwickelt. Nach Trocknen wurde mit einer Lösung von 0,3g Ninhydrin in 100ml n-Butanol und 3ml Eisessig besprüht und 5 Minuten auf

110° erhitzt. Alle Papierchromatogramme wurden fotographiert (Abbildungen 1-5, Seite 24-25), Filmmaterial: Agfapan 100 Professional, bezogen von Firma AGFA-GEVAERT, Leverkusen, Blende 11, Belichtungszeit: 1/60 Sekunde.

4. E R G E B N I S S E

4.1. Bildung von Aminozuckern bei der Dünnschichtchromatographie von Ketosen an Kieselgel H im System n-Propanol-konz. Ammoniak-Wasser (6:2:1, V:V:V)

Die relative Leichtigkeit mit der die untersuchten Ketosen während der Chromatographie (Abschnitt 3.2.2, Seite 10) aminiert werden, geht aus Tabelle 1 (Seite 18) hervor. Man sieht, daß alle untersuchten Ketosen bei Chromatographie an mit Natriumseife "imprägniertem" Kieselgel H stärker aminiert werden als bei Chromatographie an Kieselgel H ohne irgendwelche Zusätze. Dagegen ist die Imprägnierung mit Natriumacetat, sek. Natriumphosphat oder Natriumdesoxycholat ohne Einfluß auf die Aminierung. Über den Grund, weshalb Natriumseife diesen positiven Einfluß auf die Aminierung der Ketosen ausübt, ist nichts sicheres zu sagen. Sicherlich ist die Ursache nicht darin zu suchen, daß in Gegenwart von Natriumseife das Mutarotationsgleichgewicht zwischen den offenkettigen, den furanoiden und den pyranoiden Formen der Ketosen zugunsten der Form oder der Formen, die mit Ammoniak reagieren können, verschoben wird. Wäre dies der Grund, müßten Dihydroxyaceton (VI) und D-Erythrulose (VII), entgegen dem tatsächlichen Befund, bei An- und bei Abwesenheit von Natriumseife gleichgut mit Ammoniak reagieren, da diese Ketosen nur in offenkettiger Form vorliegen können. Vermutlich ist die günstige Wirkung der Natriumseife auf eine durch sie bewirkte Veränderung des Kieselgels zurückzuführen. Zweifellos übt das Kieselgel einen katalytischen Effekt auf die Aminierung der Ketosen aus, und es ist daher vernünftig, anzunehmen, daß die katalytisch wirksamen Zentren des Kieselgels durch die Natriumseife in einer solchen Weise beeinflußt oder verändert werden, daß die Aminierung der Ketosen gefördert wird.

Unabhängig davon, ob an imprägniertem oder nicht imprägniertem Kieselgel H chromatographiert wurde, läuft bei den untersuchten Monosacchariden die Reaktion mit Ammoniak umso besser ab, je kleiner das Molekulargewicht der eingesetzten Ketosen ist.

Tabelle 1: Aminierung von Ketosen während der Dünnschicht=chromatographie an Kieselgel H im System n-Propanol-konz. Ammoniak-Wasser (6:2:1, V:V:V)

Ketose	Kieselgel H				
	ohne Zusatz	+ Na-acetat	+ Na-phosphat	+ Na-des=oxycholat	+ Na-seife
Dihydroxyaceton (VI)	++++ [a]	++++	++++	++++	+++++
D-Erythrulose (VII)	+++	+++	+++	+++	++++
D-Ribulose (VIII)	+++	+++	+++	+++	++++
D-Fructose (II)	++	++	++	++	+++
L-Sorbose (IX)	++	++	++	++	+++
D-Tagatose (IV)	++	++	++	++	+++
Sedoheptulose (X)	- [b]	-	-	-	+
D-Lactulose (I)	+	+	+	+	++
Palatinose (XI)	-	-	-	-	+
Turanose (XII)	-	-	-	-	+

a) Die Anzahl der + entspricht der Intensität der Violettfär=bung nach Ansprühen der Dünnschichtchromatogramme mit Nin=hydrin-Lösung; + : schwach violette spots, +++++ : stark violette spots.

b) - : nach Besprühen mit Ninhydrin-Lösung keine Reaktion

Dies kann damit zusammenhängen, daß die Stoßwahrscheinlichkeit zwischen Ammoniak und der Ketogruppe der Ketosen und damit die Bildungswahrscheinlichkeit der entsprechenden Aminozucker mit zunehmendem Molekulargewicht, d.h. mit zunehmender Molekülgröße der Ketosen abnimmt. Gegen diese Interpretation spricht, daß die Disaccharide Palatinose (XI, Molekulargewicht: 342) und Turanose (XII, Molekulargewicht: 342) etwa ebenso gut aminiert werden wie das Monosaccharid Sedoheptulose (X, Molekulargewicht: 210). Das Disaccharid Lactulose (I, Molekulargewicht: 342) wird sogar besser als Sedoheptulose aminiert. Allerdings könnte es sein, daß aus Disacchariden unter den angewendeten Reaktionsbedingungen zunächst D-Fructose freigesetzt wird, die ihrerseits als Ketohexose (Molekulargewicht: 180), wie aus Tabelle 1 (Seite 18) hervorgeht, besser als die Ketoheptose Sedoheptulose aminiert wird. Wenn diese Vermutung zuträfe, wäre die Beobachtung, daß Lactulose besser als Palatinose und Turanose aminiert wird, dadurch zu erklären, daß Lactulose ein ß-1,4-Galaktosid ist, während es sich bei den beiden anderen Disacchariden um α-1,6- bzw. α-1,3-Glucoside handelt. Wenn diese Interpretation korrekt ist, d.h. wenn nicht die Disaccharide sondern die daraus entstehende D-Fructose mit Ammoniak reagiert, würde auch die zuerst gegebene Erklärung zutreffen, d.h. das Ausmaß der Reaktion zwischen Ammoniak und einer Ketose wäre umgekehrt proportional der Größe der Ketose.

4.2. Reaktion von Dihydroxyaceton (VI), D-Erythrulose (VII), D-Ribulose (VIII), D-Fructose (II), L-Sorbose (IX) und D-Tagatose (V) mit Ammoniak (präparative Versuche) und Bestimmung der dabei entstandenen Aminozucker

Die Daten, die bei den in den Abschnitten 3.2.2. (Seite 10) und 3.3. (Seite 10) geschilderten Versuche gewonnen wurden, gehen aus den Tabellen 2 und 3 (Seite 20) hervor.

Man sieht, daß wie bei der Dünnschichtchromatographie auch hier, mit Ausnahme von Dihydroxyaceton, in Anwesenheit von Natriumseife stets mehr Aminozucker als in Abwesenheit von Na=

Tabelle 2: Ausbeuten an Aminozuckern, die bei Umsetzung von 2,77m Mol Ketose mit 100ml eines Gemischs aus n-Propanol, Wasser und konz. Ammoniak (8:3:1, V:V:V) in Gegenwart von Kieselgel H (ohne Zusatz) entstehen

Ketose	Ausbeute an Aminozucker absolut	prozentual [a]	relativ [b]
Dihydroxyaceton (VI)	0,00m Mol	0,0%	0
D-Erythrulose (VII)	0,07m Mol	2,5%	31
D-Ribulose (VIII)	0,23m Mol	8,3%	104
D-Tagatose (IV)	0,25m Mol	9,0% [c]	113
L-Sorbose (IX)	0,27m Mol	9,8%	122
D-Fructose (II)	0,22m Mol	8,0%	100

a) bezogen auf die eingesetzte Menge Ketose

b) bezogen auf die Ausbeute an Aminozucker die aus D-Fructose entsteht. Diese Ausbeute wird = 100 gesetzt.

c) WEICKER und GRÄSSLIN hatten aus D-Tagatose D-Galaktosamin in einer Ausbeute von 8% erhalten.

Tabelle 3: Ausbeuten an Aminozuckern, die bei Umsetzung von 2,77m Mol Ketose mit 100ml eines Gemischs aus n-Propanol, Wasser und konz. Ammoniak (8:3:1, V:V:V) in Gegenwart von Kieselgel H (bei Zusatz von Natriumseife) entstehen

Ketose	Ausbeute an Aminozucker absolut	prozentual [a]	relativ [b]
Dihydroxyaceton (VI)	0,00m Mol	0,0%	0
D-Erythrulose (VII)	0,15m Mol	5,4%	68
D-Ribulose (VIII)	0,36m Mol	13,0%	163
D-Tagatose (IV)	0,51m Mol	18,4%	231
L-Sorbose (IX)	0,35m Mol	12,6%	159
D-Fructose (II)	0,35m Mol	12,6%	159

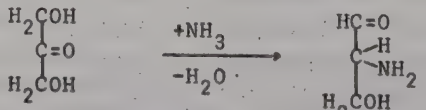
a) bezogen auf die eingesetzte Menge Ketose

b) bezogen auf die Ausbeute an Aminozucker die aus D-Fructose ohne Zusatz von Natriumseife entsteht. Diese Ausbeute wird = 100 gesetzt.

triumseife gebildet wird. Bei der Aminierung der D-Fructose entstand ausschließlich D-Glucosamin. Dies zeigten die in Zusammenhang mit den quantitativen Untersuchungen angefertigten Dünnschichtchromatogramme (Abschnitt 3.4., Seite 12). Auf diesen hatten Dansyl-D-glucosamin und Dansyl-D-mannosamin deutlich unterschiedliche R_F-Werte. Auf den Chromatogrammen der mit Dansylchorid (XV) behandelten Ansätze zur Aminierung der D-Fructose war kein Dansyl-D-mannosamin vorhanden. Dies bedeutet, daß bei der Aminierung der D-Fructose nur D-Glucosamin, nicht aber D-Mannosamin entsteht. Nachdem die in Tabelle 1 zusammengefaßten Ergebnisse vorlagen, wurden, wie bereits (Seite 10) erwähnt, die weiteren Untersuchungen auf die bei An- bzw. Abwesenheit von Natriumseife durch Kieselgel katalysierten Aminierungen von Dihydroxyaceton (VI), D-Erythrulose (VII), D-Ribulose (VIII), D-Fructose (II), L-Sorbose (IX) und D-Tagatose (IV) beschränkt. Im Gegensatz zu den Ergebnissen bei der Dünnschichtchromatographie waren hier aber die Ausbeuten an Aminozuckern umso größer, je größer das Molekulargewicht der eingesetzten Ketosen war.

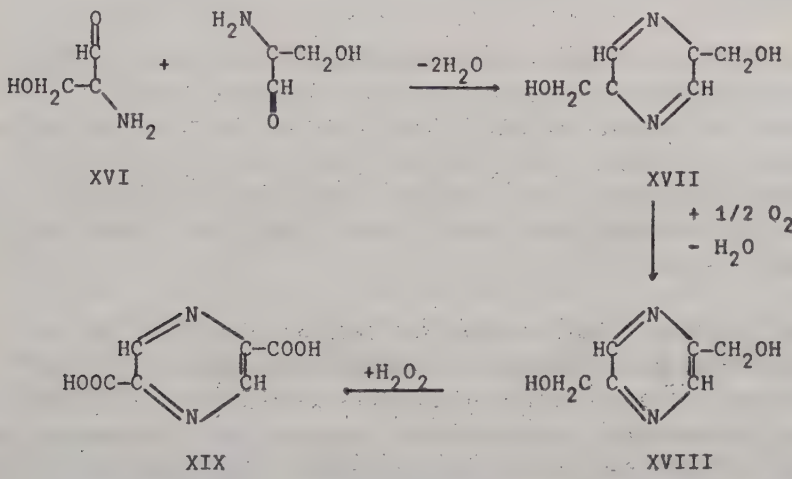
Die größte Diskrepanz zwischen dem Ergebnis der Dünnschichtchromatographie und dem quantitativen Befund bei der präparativen Umsetzung fand sich beim Dihydroxyaceton (VI), das sich auf der Dünnschichtplatte sowohl bei Abwesenheit als auch bei Anwesenheit von Natriumseife am besten aminieren läßt (vgl. Tabelle 1, Seite 18), das aber bei der präparativen Umsetzung überhaupt keinen Aminozucker bildet. Diese Unstimmigkeit wurde zunächst geklärt.

Es ist möglich, daß VI mit Ammoniak zunächst tatsächlich einen Aminozucker bildet (2-Desoxy-2amino-D, L-Glycerinaldehyd, XVI).

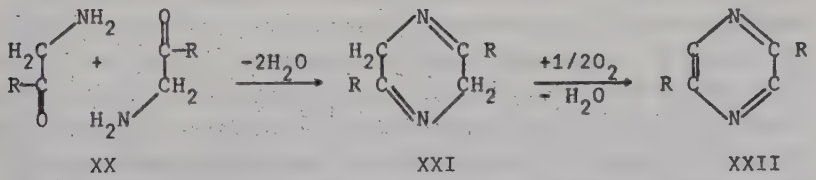


VI XVI

XVI könnte dann unter Wasseraustritt schnell in 1,4-Dihydro-2,5-bis-oxymethyl-pyrazin (XVII) übergehen, das durch Einwirkung von Sauerstoff in 2,5-Bis-oxymethyl-pyrazin (XVIII)



Überginge. Diese Bildung von XVIII entspräche somit der Umwandlung von 1-Desoxy-1-amino-D-fructose (XX) in 2,5-Bis-(D-arabo-tetrahydroxybutyl)-pyrazin (XXII) (MAURER und SCHIEDT, 1935, KUHN, KRÜGER, HAAS, SEELIGER, 1961), bei der ebenfalls



R= CHOH-CHOH-CHOH-CH_2OH (D-arabo)

ein Derivat (XXI) eines Dihydroxypyrazins als Zwischenprodukt angenommen wird. Die Bildung von XVIII aus VI entspräche im übrigen vollkommen der schon lange bekannten Bildung von XXII bei wochenlanger Einwirkung von Ammoniak auf D-Fructose (LOBRY DE BRUYN, 1899, STOLTE, 1908). Die Vermutung, daß sich XVII oder XVIII aus primär entstandenem XVI gebildet hat, wird dadurch bekräftigt, daß nach Behandlung mit alkalischem Wasser-

stoffperoxid Pyrazin-dicarbonsäure-(2,5) (XIX) isoliert werden konnte. (XIX wurde durch seinen Schmelzpunkt und die Mischprobe mit authentischem Material identifiziert; Einzelheiten: Abschnitt 3.5., Seite 15).

Über den Grund, weshalb Dihydroxyaceton zwar sowohl auf der Dünnschichtplatte als auch bei der präparativen Umsetzung einen Aminozucker bildet, dieser aber nur im Laufe der präparativen Umsetzung völlig in das Pyrazin-Derivat XVIII übergeht, kann nichts zuverlässiges gesagt werden. Vermutlich sind die unterschiedlichen Reaktionsbedingungen für dieses Phänomen verantwortlich.

Die Tabellen 2 und 3 (Seite 20) zeigten weiterhin, daß bei den präparativen Umsetzungen auch D-Erythrulose (VII) und D-Ribulose (VIII) schlechter aminiert werden als die untersuchten Ketohexosen. Zunächst wurde vermutet, daß die Ursache für die im Falle der D-Ribulose beobachtete Diskrepanz darin läge, daß das nach Vorschrift (GRETH und HAAS, 1972) hergestellte und für die präparativen Umsetzungen eingesetzte Präparat mehr Verunreinigungen enthielte, als das für die dünnschichtchromatographische Aminierung benutzte, gekaufte Präparat, und daß deshalb die Ergebnisse der dünnschichtchromatographischen und der präparativen Aminierungen nicht miteinander verglichen werden könnten. Diese Vermutung erwies sich als unrichtig, da sich die für die präparativen Aminierungen eingesetzte D-Ribulose in mehreren chromatographischen Systemen als einheitlich erwies. (Im Falle der D-Erythrulose hätte diese Diskrepanz auf keinen Fall durch unterschiedliche Verunreinigungen erklärt werden können, da für die dünnschichtchromatographischen und präparativen Aminierungen das gleiche, nach Vorschrift (HAAS und MATZ, 1972) hergestellte Präparat verwendet wurde. So mußte angenommen werden, daß zumindest ein Teil der eingesetzten Ketosen während der Umsetzungen mit Kieselgel und Ammoniak durch das anwesende Wasser oder das ebenfalls anwesende n-Propanol in solche Verbindungen überführt werden, die mit Ammoniak nicht die entsprechenden Aminozucker ergeben. Es zeigte sich, daß D-Erythrulose (VII) und D-Ribulose (VIII), gelöst

in n-Propanol oder in i-Propanol tatsächlich schnell so verändert werden, daß bei der Umsetzung mit Ammoniak verhältnismäßig geringe Mengen der entsprechenden Aminozucker entstehen. Weiterhin zeigte sich, daß auch D-Fructose (II), L-Sorbose (IX) und D-Tagatose (IV) sowohl durch n-Propanol als auch durch i-Propanol im gleichen Sinn, wenn auch in geringerem Umfang, verändert werden. Diese Befunde ergaben sich, als gleiche Volumina äquimolekularer, frisch bereiteter Lösungen in Wasser bzw. in n-Propanol bzw. in i-Propanol im System n-Propanol-konz. Ammoniak-Wasser papierchromatographiert und die entwickelten Papierchromatogramme mit Ninhydrin-Lösung besprüht wurden (vgl. Abschnitt 3.6., Seite 15). Es zeigte sich nämlich (Abbildungen 1-5), daß die Lösungen der Ketosen in n-Propanol und in i-Propanol wesentlich kleinere und weniger intensiv violette Flecke (verursacht durch die während der Chromatographie gebildeten Aminozucker) ergaben.

Abbildungen 1 bis 5: Veränderung von D-Erythrulose, D-Ribulose, D-Fructose, L-Sorbose und D-Tagatose in n-Propanol und in i-Propanol (Einzelheiten: siehe Text)

Abbildung 1:

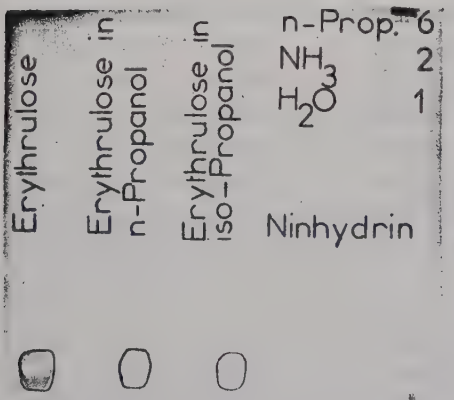


Abbildung 2:

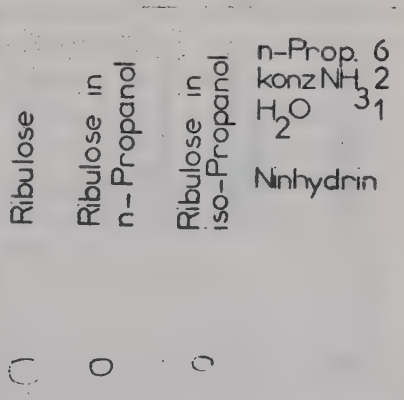


Abbildung 3:

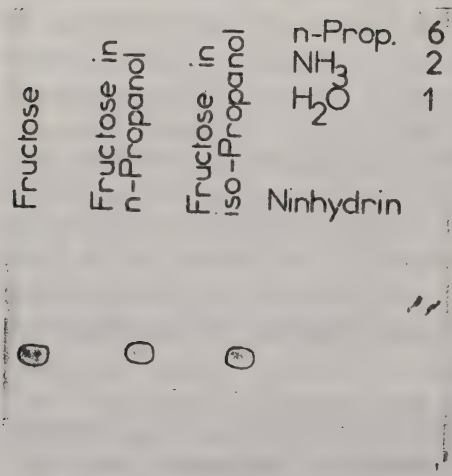


Abbildung 4:

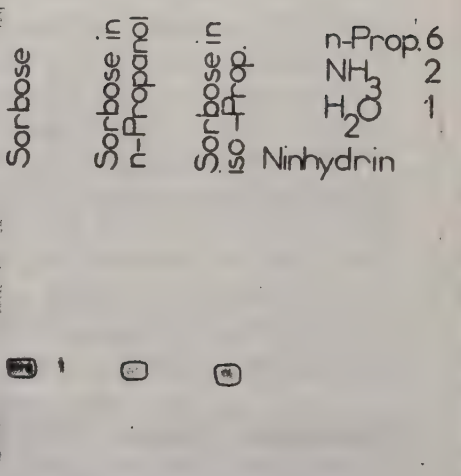
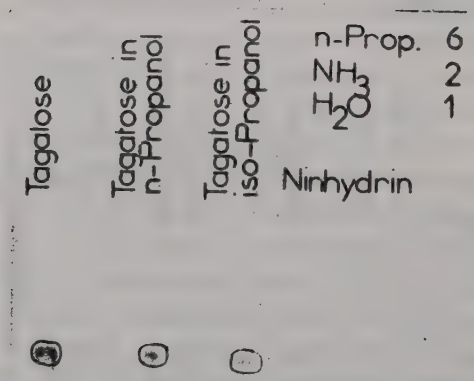


Abbildung 5:



Diese Resultate zeigen eindeutig, daß alle untersuchten Ketohexosen in Lösungen von n-Propanol und i-Propanol geringfügig, D-Erythrulose und D-Ribulose in solchen Lösungen jedoch zu großen Teilen so verändert werden, daß die Bildung der entsprechenden Aminozucker mehr oder weniger stark beeinträchtigt wird.

Die Methode zur präparativen Aminierung der Ketosen in n-Propanol wurde, wie bereits (Seite 11) erwähnt, wesentlich aus einer früheren Arbeit (WEICKER und GRÄSSLIN, 1964) übernommen, die in der vorliegenden Arbeit benutzten Lösungsmittelgemische (n-Propanol, Wasser, konz. Ammoniak (8:3:1, V:V:V)) wurden unverändert übernommen. WEICKER und GRÄSSLIN hatten nicht untersucht, ob n-Propanol und i-Propanol die Aminozuckerbildungen beeinflussen. Die in der vorliegenden Arbeit geschilderte Diskrepanz zwischen den Ergebnissen der Aminierungen auf Kieselgel-Dünnschichtplatten und in präparativen Ansätzen wurde erst nach Auswertung aller analytischen Ergebnisse offenkundig. Ob die Ketosen in einem anderen Lösungsmittel besser zu aminieren sind, muß weiteren experimentellen Untersuchungen überlassen bleiben.

Aus den Tabellen 2 und 3 (Seite 20) geht eindeutig hervor, daß von allen untersuchten Ketohexosen D-Tagatose bei der Umsetzung mit Ammoniak in Gegenwart von Natriumseife die größte Menge Aminozucker bildet, während in Abwesenheit von Natriumseife die untersuchten Ketohexosen etwa gleich gut aminiert werden. Es wäre daher interessant und empfehlenswert, die vorliegenden, in-vitro gesammelten Erfahrungen auf in-vivo Versuche auszudehnen, um zu prüfen, ob D-Tagatose vielleicht besser als D-Fructose geeignet ist, die bei Leberparenchymschäden zu beobachtende Hyperammonämie zu beheben.

5. ZUSAMMENFASSUNG

Die in Gegenwart von Kieselgel H und n-Propanol erfolgenden Umsetzungen von Dihydroxyaceton (VI), D-Erythrulose (VII), D-Ribulose (VIII), D-Fructose (II), L-Sorbose (IX) und D-Tagatose (IV) mit Ammoniak zu den entsprechenden Aminozuckern wurden quantitativ untersucht. Mit Ausnahme von Dihydroxyaceton reagieren die Ketosen in Gegenwart von Natriumseife besser als in deren Abwesenheit. Die höchsten Ausbeuten an Aminozucker ergeben (bei Abwesenheit von Natriumseife) L-Sorbose (9,8%) und (bei Anwesenheit von Natriumseife) D-Tagatose (18,4%). Die Aminierung der bei Hyperammonämien bisher verwendeten D-Fructose ergibt Aminozuckerausbeuten von 8,0% (bei Abwesenheit von Natriumseife) bzw. 12,6% (bei Anwesenheit von Natriumseife). Vermutlich ergeben D-Erythrulose und D-Ribulose noch höhere Aminozuckerausbeuten, wenn in Abwesenheit von n-Propanol und von i-Propanol gearbeitet wird, da auf Dünnschichtchromatogrammen die Aminierungen umso ausgeprägter sind, je kleiner die Molekulargewichte der Ketosen sind.

Bei der Aminierung von D-Fructose entsteht D-Glucosamin (III) nicht aber das epimere D-Mannosamin (XIII).

Aufgrund der Ergebnisse sollte geprüft werden, ob D-Tagatose zur Behandlung von Hyperammonämien eingesetzt werden kann.

6. L I T E R A T U R

AL-JOBORE, A. A. H., GUTHRIE, R. D. und WELLS, R. D.: A new route for the synthesis of D-tagatose
Carbohyd. Res. 16, (1971): 474-476.

BIRCHER, J.: Die Behandlung des chronischen Coma hepaticum mit Laktulose
Ther. Umsch. 26, (1969): 275-277.

GRETH, I. und HAAS, H. J.: Darstellung von D-Ribulose
Liebigs Ann. Chem., im Druck.

GRÜNNAGEL, R. und HAAS, H. J.: Darstellung von D-Tagatose
Liebigs Ann. Chem. 721, (1969): 234-235.

HAAS, H. J. und WEIGERDING, A.: Methode zum quantitativen Nachweis von Hexosaminen als N-2,4-Dinitrophenyl-Derivate
Carbohyd. Res. 12, (1970): 211-218.

HAAS, H. J., SCHWIERSCH, G. und WEIGERDING, A.: Bestimmung kleiner Mengen von Aminozuckern
VI. Internationales Symposium für Mikrochemie, Graz, 1970;
Abstracts, Band C, 43.

HAAS, H. J. und MATZ, B.: Darstellung von reiner D-Erythrulose
Liebigs Ann. Chem., im Druck.

HEYNS, K. und KOCH, W.: Über die Bildung eines Aminozuckers aus D-Fructose und Ammoniak
Z. Naturforschg. 7b, (1952): 486-488.

HEYNS, K. und MEINECKE, K. H.: Über die Bildung und Darstellung von D-Glucosamin aus Fructose und Ammoniak
Chem. Ber. 86, (1953): 1453-1462.

HEYNS, K., EICHSTEDT, R. und MEINECKE, K. H.: Die Umsetzung von Fructose und Sorbose mit Ammoniak und Aminen
Chem. Ber. 88, (1955): 1551-1555.

KUHN, R., KRÜGER, G., HAAS, H. J. und SEELIGER, A.: Pyrazinbildung aus Aminozuckern
Liebigs Ann. Chem. 644, (1961): 122-127.

LOBRY DE BRUYN, C. A.: Une dérivé ammoniacal du fructose
Recueil Trav. chim. Pays-Bas 88, (1899): 72-76.

MARKOFF, N.: Therapie des Coma hepaticum
Dtsch. Med. Wochenschr. 94, (1969): 1829-1832.

MAURER, K. und SCHIEDT: Eine ergiebige Darstellung des Isoglucosamins, zugleich ein Beitrag zur katalytischen Hydrierung von Osazonen
Ber. dtsch. chem. Ges. 68, (1935): 2187-2191.

MÜTING, D., REIKOWSKI, H., ESCHRICH, W., KLEIN, CH. und DOENECKE D.: Normalisierende Wirkung in Bacterium-bifidum-Milch auf den Eiweißstoffwechsel bei Lebercirrhose
Dtsch. Med. Wochenschr. 93, (1968): 1313-1319.

MÜTING, D., REIKOWSKI, H., ESCHRICH, W. und MATZANDER, U.: Zur Therapie des Coma hepaticum Med. Welt. (1966): 1814-1819.

SCHWIERSCH, G.: Fluorometrische Bestimmung von Glucosamin Dissertation, Medizinische Fakultät der Universität des Saarlandes, Homburg, 1970.

STAHL, E.: Dünnschichtchromatographie, 2. Aufl., Berlin, Heidelberg, New York, 1967 Springer.

STOLTE, K.: Über das Verhalten des Glucosamins und seines nächsten Umwandlungs= produkts im Tierkörper. Beitr. z. chem. Physiol. u. Patho. 11, (1908): 19-34 zitiert nach C (1908, I): 224-225.

WEICKER, H. und BROSSMER, R.: Aminierung von Zuckern während der Chromatographie an Kieselgel G bei Verwendung eines ammoniakalischen Lösungsmittels Klin. Wochenschr. 39, (1961): 1265-1266.

WEICKER, H. und GRÄSSLIN, D.: Galaktosaminsynthese aus Tagatose an Kieselgel H in wässrigem ammoniaka= lischem Milieu Hoppe Seylers Z. Physiol. Chem. 337, (1964) 133-135.

WEICKER, H.: Die Bedeutung der Fructose bei der enteralen Ammoniakentgiftung in L. WANAGAT: Leber und Milz, 4. Lebertagung der Sozialmediziner, Bad Mergentheim, 15.-17.10.1965, Stuttgart 1967 Thieme.

WEIGERDING, A.: Quantitativer Nachweis von Hexosaminen als N-2,4-Dinitrophenyl-Derivate
Dissertation, Medizinische Fakultät der Universität des Saarlandes, Homburg, 1970.

D A N K

Ich danke Herrn Professor Dr. Haas für die freundliche Überlassung des Themas der vorliegenden Dissertation und für die jederzeit gewährte Unterstützung bei der Bearbeitung der verschiedenen Sachfragen. Im besonderen danke ich Herrn Professor Dr. Haas dafür, daß er in hervorragender Weise dazu beigetragen hat, stets eine außerordentlich günstige Arbeitsatmosphäre zu schaffen.

L E B E N S L A U F

Ich wurde am 1. Juli 1946 in Landau als erster Sohn des praktischen Arztes Dr. med. Karl Greth und seiner Ehefrau Edith Greth, geb. Ruppe, geboren.

Von 1953 bis 1957 besuchte ich die Volksschule in Pirmasens; mein weiterer Schulweg führte danach 2 Jahre lang zum Naturwissenschaftlichen Gymnasium Pirmasens, von dem ich 1960 auf das Neusprachliche Gymnasium Pirmasens überwechselte, und an dem ich 1966 die Reifeprüfung ablegte. Im Sommersemester 1966 begann ich an der Universität des Saarlandes mit dem Studium der Medizin, 1967 bestand ich die Naturwissenschaftliche Vorprüfung, 1969 die Ärztliche Vorprüfung und im Juni 1972 die Ärztliche Prüfung. Seit dem 1. Juli 1972 bin ich als Medizinalassistent tätig.